

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.161.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ
ЭЛЕМЕНТООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ИМ. А.Н.НЕСМЕЯНОВА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 18 июня 2024 №13

О присуждении Куликову Виктору Николаевичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Разработка методов синтеза и антимикобактериальная активность ферроценсодержащих структурных аналогов и производных изониазида» по специальностям 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений и 1.4.3. – Органическая химия принята к защите 12 апреля 2024 года (протокол заседания №10) диссертационным советом 24.1.161.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук, 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 28, стр.1, Приказ о создании совета №105/НК от 11.04.2012 г.

Соискатель Куликов Виктор Николаевич, «29» марта 1991 года рождения. В 2012 году соискатель окончил с отличием Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» г. Москва по направлению подготовки 04.05.01 «Фундаментальная и прикладная химия», работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук в должности младшего научного сотрудника.

Диссертация выполнена в Лаборатории механизмов реакций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук.

Научные руководители:

Белоусов Юрий Анатольевич – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов реакций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук;

Родионов Алексей Николаевич – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории механизмов реакций Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

Шаповалов Сергей Сергеевич – кандидат химических наук, заведующий лабораторией химии обменных кластеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук;

Аверин Алексей Дмитриевич – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник кафедры органической химии химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

— дали **положительные отзывы** на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук (г. Москва) в своем положительном отзыве, подписанном Терентьевым Александром Олеговичем, доктором химических наук, членом-корреспондентом РАН, директором Федерального

государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, (заключение составлено Старосотниковым Алексеем Михайловичем, доктором химических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории ароматических азотсодержащих соединений) указала, что диссертационная работа Куликова Виктора Николаевича полностью соответствует требованиям ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук, установленным в п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в действующей редакции), а ее автор, Куликов Виктор Николаевич, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений и 1.4.3. – Органическая химия. Результаты диссертационной работы Куликова В.Н. могут представлять интерес как для фундаментальной науки, так и для прикладных исследований в области создания новых фармакологически ориентированных соединений, а также могут быть использованы и в методологических целях в таких научных и образовательных учреждениях как Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН, Международный томографический центр СО РАН, Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, а также многими другими организациями.

Соискатель имеет 5 опубликованных работ, индексируемых в международных базах данных (*Scopus, Web of Science*), в том числе по теме

диссертации опубликовано 3 работы, из них в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, опубликовано 3 работы. Диссертационное исследование представлено на 17 конференциях. Опубликованные работы полностью отражают основные положения диссертационного исследования, в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах.

Основные работы:

- 1) Куликов В.Н. Синтез и редокс свойства эфиров 5-ферроценил-1*H*-пиразолкарбоновых кислот / В.Н. Куликов, О.М. Никитин, Ю.А. Борисов, А.С. Макаров, А.Н. Родионов, Р.С. Никулин, Л.В. Коваленко, Ю.А. Белоусов // Изв. АН. Сер. хим. – 2014. – Т. 63, №. 10. – С. 2255-2259.
- 2) Куликов В.Н. Ферроценкарбоновая кислота и микроволновый синтез ферроценоилгидразонов / В.Н. Куликов, Р.С. Никулин, Д.Е. Архипов, А.Н. Родионов, Е.С. Бабусенко, Л.В. Коваленко, Ю.А. Белоусов // Изв. АН. Сер. хим. – 2017. – Т. 66, №. 3. – С. 537-544.
- 3) Куликов В.Н. Синтез и антимикобактериальная активность *N*-изоникотиноил-*N'*-алкилиденферроценкарбогидразидов / В.Н. Куликов, Р.С. Никулин, А.Н. Родионов, Е.С. Бабусенко, В.Н. Бабин, Л.В. Коваленко, Ю.А. Белоусов // Изв. АН. Сер. хим. – 2017. – Т. 66, №. 6. – С. 1122-1125.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от: 1. **Утеповой И.А.**, доктора химических наук, профессора кафедры органической и биомолекулярной химии Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» и **Чарушина В.Н.**, доктора химических наук, академика РАН, профессора кафедры органической и биомолекулярной химии Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»; 2. **Шувалова В.Ю.**, кандидата химических наук, доцента кафедры «Органическая и аналитическая химия» ФГАОУ ВО Омского государственного университета им. Ф.М. Достоевского; 3. **Сольева П.Н.**, кандидата химических наук,

ведущего научного сотрудника лаборатории регуляции биокатализа ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН; 4. **Калистратовой А.В.**, кандидата химических наук, доцента кафедры химии и технологии биомедицинских препаратов ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева»; 5. **Ярёменко И.А.**, кандидата химических наук, старшего научного сотрудника лаборатории исследования гомолитических реакций №13 ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского» РАН.

Все отзывы положительные. В отзывах указывается, что диссертационная работа Куликова В.Н. выполнена по актуальной тематике, обладает высокой практической значимостью и научной новизной. Автор работы заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений и 1.4.3. – Органическая химия. В отзывах подчеркнута значимость обнаружения новых соединений в ряду ферроценсодержащих производных изониазида, активных в отношении устойчивых к изониазиду штаммов микобактерий, как элемента пути разработки новых противотуберкулёзных препаратов. Отмечено, что разработанная методика синтеза ферроценкарбоновой кислоты может стать основой для создания технологической схемы производства, а предложенные препаративные способы получения гидразонов ферроценкарбоновой кислоты и 1,3-дикарбонильных производных ферроцена могут оказаться востребованными в синтезе ферроценсодержащих лигандов и самостоятельных гетероциклических производных ферроцена.

В отзывах отсутствуют критические замечания, но указано наличие в работе опечаток, ошибок нумерации соединений и использование не всегда удачных формулировок. Отмечено, что результаты микробиологического тестирования соединений приведены в автореферате только в текстовом виде и без указания доверительных интервалов, что недостаточно наглядно

отражает разброс в величинах биологической активности. Также высказан ряд вопросов и рекомендаций:

- 1) В подписях к рисункам на страницах 12, 15, 16 автореферата следует указать, что представленные структуры установлены по результатам рентгеноструктурного анализа.
- 2) Чем обусловлена высокая скорость (20-40с) реакции при получении ферроценкарбогидразонов посредством микроволновой активации?
- 3) Возможно ли прохождение обратной реакции ацилирования соединения 26 (Рисунок 5, стр. 20 автореферата), учитывая, что в предложенном механизме уходящий (изо)никотиноильный фрагмент представлен в виде катиона.
- 4) Отмечено, что в автореферате не рассматривается образование катиона феррициния как возможной причины повышения чувствительности N-(изо)никотиноилпиразолов к гидролизу.
- 5) Каков предположительный механизм антибактериального действия N-изоникотиноил-N-ферроценоилгидразонов.
- 6) В последующих работах следует установить способны ли ферроценсодержащие ацилгидразоны, оставаясь нетоксичными для клеток, активироваться с помощью микобактериального фермента KatG, реализуя терминирующий еноил-АПБ-редуктазу InhA эффект?

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что кандидат химических наук Шаповалов Сергей Сергеевич и доктор химических наук Аверин Алексей Дмитриевич являются специалистами в области элементоорганической химии, в частности, химии ферроцена и комплексов переходных металлов; доктор химических наук Аверин Алексей Дмитриевич и сотрудники Лаборатории ароматических азотсодержащих соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук являются специалистами в области органической химии, в частности, химии гетероциклических соединений.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Разработаны новые методики синтеза важных промежуточных продуктов в химии производных ферроцена – ферроценкарбоновой кислоты, ферроценкарбогидразонов, ферроценсодержащих 1,3-дикарбонильных соединений. **Предложен** дизайн и пути получения трёх новых групп ферроценсодержащих производных и структурных аналогов изониазида. **Показана** перспективность комбинирования фрагмента ферроцена с изониазидным структурным мотивом в молекуле действующего вещества для получения новых соединений, активных в отношении устойчивых к изониазиду штаммов микобактерий.

Теоретическая значимость исследования обусловлена тем, что: в предложенной работе **проанализированы** и **обобщены** известные данные по антимикобактериальной активности производных изониазида. **Выявлены** качественные зависимости между строением исследуемых соединений (изомерных эфиров 5-ферроценил-1*H*-пиразолкарбоновых кислот; замещённых N-(изо)никотиноилферроценил-1*H*-пиразолов; N-изоникотиноилферроценкарбогидразонов) и их реакционной способностью, редокс-потенциалами и характерными спектральными свойствами. **Предложена концепция**, качественно описывающая зависимость антимикобактериальной активности N-изоникотиноилферроценкарбогидразонов от природы N'-алкилиденового остатка.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики обусловлено тем, что: **разработанные** препаративные методы получения ферроценкарбоновой кислоты и этиловых эфиров ферроценоилуксусной и ферроценоилпировиноградной кислот могут стать основой для разработки технологий производства этих соединений. **Выявленный** новый класс антимикобактериальных соединений – N-изоникотиноилферроценкарбогидразоны, может стать источником новых

антимикобактериальных препаратов, активных в отношении устойчивых к изониазиду штаммов микобактерий.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

Экспериментальные работы проведены с корректным применением методик и применением совокупности современных физико-химических методов установления строения и исследования свойств полученных соединений (ИК-, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ, РСА) на сертифицированном оборудовании. Достоверность биологических исследований обеспечена использованием актуальных методик определения а также сходимостью и воспроизводимостью полученных результатов в повторяемых опытах. **Теория** построена на известных положениях и проверяемых фактах и соответствует современным представлениям в научной литературе по теме диссертации. **Идея базируется** на анализе большого числа публикаций, посвященных разработке новых антибактериальных средств, вопросам преодоления лекарственной устойчивости микобактерий и исследованиям антимикобактериальной активности производных ферроцена. **Использовано** сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике; **установлено** качественное соответствие результатов автора с данными, приведенными в независимых источниках по данной теме в случаях, когда такое сравнение является обоснованным.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования: формулировка концепции исследования, анализ литературных данных, постановка задач, разработка методов синтеза, выполнение синтетической работы, интерпретация полученных результатов и их публикация.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие вопросы:

1. Каким образом определено, что при ацилировании 3(5)-ферроценил-1*H*-пиразолов образуется смесь изомеров положения? Можно ли определить выходы отдельных изомеров N-(изо)никотиноил-3(5)-ферроценил-1*H*-

пиразолов? Есть ли возможность соотнести определённые сигналы в ^1H ЯМР-спектре с конкретным изомером?

2. Можно ли оценить, какое положение более активно амидируется при ацилировании 3(5)-ферроценил-1*H*-пиразолов?

3. Почему при синтезе ферроценкарбоновой кислоты было отдано предпочтение использованию в качестве реакционного сосуда пластиковой бутылки, а не автоклава? Каково соотношение эффективности автоклавного и синтеза с использованием пластиковой бутылки?

4. Как на практике реализуется достижение 5 атмосфер углекислого газа в бутылке при синтезе ферроценкарбоновой кислоты?

5. Происходит ли изомеризация и переход между соединениями 17-17' и 18-18' или они сразу образуются в виде смеси в каком-либо соотношении? Возможно ли разделение образующихся смесей изомеров: если не хроматографически то, например, возгонкой в высоком вакууме или молекулярной перегонкой?

6. Каковы загрузки в синтезе ферроценкарбогидразонов с микроволновой активацией и без неё? Что представляет собой микроволновая установка?

7. Как в синтезе ферроценкарбоновой кислоты поддерживалось давление на уровне 3-5 атмосфер?

8. *N*-изоникотиноилферроценкарбогидразоны с довольно близкой структурой проявляют существенно различающуюся активность. Например: *p*-хлор- проявляет, а *o*-хлор- не проявляет её. Есть ли какие-то обобщения, может быть, на основе литературных данных, по связи «структура – свойство» и тому какие соединения будут обладать активностью?

9. Выполнялся ли элементный анализ образцов соединений, использованных в микробиологическом тестировании?

10. Какова роль цинка при синтезе ферроценкарбоновой кислоты? Какова процедура выделения конечного продукта? Какой хлорид алюминия использовался: безводный или гидрат?

11. Проверяться ли стабильность N-изоникотиноилферроценкарбогидразонов после обработки ими штаммов микобактерий? Происходит ли разложение, например, по иминной связи.

12. Какого типа бутылку лучше использовать в качестве реакционного сосуда при проведении синтеза ферроценкарбоновой кислоты. Были ли случаи взрыва бутылки при, например, неверном расчёте загрузки сухого льда?

Соискатель Куликов В.Н. ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию:

1. Образование двух изомеров N-(изо)никотиноил-3(5)-ферроценил-1*H*-пиразолов определено по различию для разных изомеров сигналов протона пиразольного кольца в ¹H ЯМР-спектре. Соотношение выходов отдельных изомеров определено по соотношению интенсивности этих сигналов. Отнесение определённого сигнала к конкретному изомеру возможно с применением методов двухмерной ЯМР-спектроскопии.

2. Соотношение реакционной способности альтернативных центров зависит от заместителя в пиразольном кольце. Чем более акцепторный заместитель, тем больше она выравнивается и соотношение образующихся изомеров приближается к 1:1. Чем больше донорный эффект заместителя, тем больше различаются концентрации образующихся изомеров. Какой именно изомер образуется преимущественно, можно определить при помощи методов двухмерной ЯМР-спектроскопии.

3. Использование пластиковой бутылки в качестве реакционного сосуда даёт примерно тот же результат, что и применение автоклава. При этом с бутылкой удобнее работать из-за её меньшего веса и потому, что она может быть использована как одноразовый сосуд, тогда как автоклав после синтеза необходимо очищать. Преимущество автоклава состоит в возможности проводить синтез при давлении выше 5 атмосфер, что позволит провести процесс за меньшее время. Однако при использовании высоких давлений происходит осмоление реакционной смеси из-за её сильного разогрева в

процессе реакции, приводящее к снижению выхода. Потому применение пластиковой бутылки является более рациональным.

4. При выполнении работы было реализовано несколько вариантов создания повышенного давления углекислого газа внутри реакционного сосуда. Внесение углекислого газа в виде сухого льда непосредственно в реакционную смесь и последующая герметизация реакционного сосуда; возгонка сухого льда в сосуде, сообщающемся с реакционным; подача углекислого газа из баллона через вклеенный в крышку штуцер. Также возможно оснащение крышки бутылки крючком с внутренней стороны и подвешивание на него свёртка с сухим льдом, что предотвратит контакт реакционной смеси с конденсированной на поверхности сухого льда атмосферной влагой и обеспечит плавное повышение давления по мере его постепенной возгонки.

5. Рассматриваемые соединения возгоняются совместно. Более вероятным представляется образование смеси изомеров. Исходное соединение представляет собой равновесную смесь таутомеров и их реакционная способность вряд ли различается столь кардинально, чтобы мог образовываться только один продукт. По поводу разделения. Если такая задача будет поставлена, то разделить смесь, конечно, возможно. Рассматриваемые вещества лабильны на активных сорбентах, но возможно использование менее активных сорбентов, большей высоты хроматографической колонки и специфических элюентов.

6. В случае конвенционального нагрева загрузки ничем не ограничены. В случае микроволнового синтеза во всех случаях использовалась загрузка в 1г гидразида ферроценкарбоновой кислоты. В использованной микроволновой установке загрузку можно было бы увеличить до, примерно, 20г. Микроволновая установка представляет собой бытовую микроволновую печь.

7. Давление в синтезе ферроценкарбоновой кислоты задавалось редуктором на газовом баллоне. На начальных этапах, когда синтез

проводился с использованием сухого льда, производился расчёт загрузки сухого льда на имеющийся объём бутылки таким образом, чтобы давление на момент окончания реакции не превышало определённого выбранного уровня.

8. В литературе аналогов этих соединений нет и нужно либо ориентироваться на собственные данные, либо обобщать связь «структура – свойство» по не ацилированным, а обычным гидразонным производным изониазида. По имеющимся данным можно сделать вывод о том, что хорошую активность проявляют алкилиденные производные и продукты с пара-замещением по ароматическому фрагменту. Орто-замещённые производные не активны, скорее всего, потому, что такое замещение препятствует связыванию вещества с ферментом. Если обобщать литературные данные по гидразонным производным изониазида, то считается, что модификация, повышающая липофильность – до определённого предела, будет вызывать рост активности. Этим можно объяснить отсутствие активности у двух соединений с метоксигруппами.

9. Образцы соединений, использованные в микробиологическом тестировании, проверялись методом элементного анализа.

10. Хлорид алюминия используется безводный, потому что только он проявляет каталитическую активность. Именно поэтому нежелательно присутствие воды в исходных компонентах смеси. Роль цинка состоит в том, что в момент проведения реакции он связывает соляную кислоту, образующуюся из-за наличия остаточной воды, неизбежно присутствующей в исходных соединениях. Соляная кислота в условиях синтеза разрушает ферроцен, что снижает выход и приводит к образованию циклопентадиенильных смол, от которых потребуются дополнительная очистка. На стадии выделения роль цинка также состоит во взаимодействии с соляной кислотой и обеспечении восстановительной среды в момент обработки реакционной смеси выливанием на частично замороженную подкисленную соляной кислотой воду. Без цинка степень разрушения ферроценовых компонентов реакционной смеси на этом этапе становится

выше. По поводу технической реализации процесса... К смеси исходных соединений подаётся углекислый газ, в течение следующего получаса реакционная смесь периодически встряхивается для обеспечения однородности. Превращение можно считать завершённым при прекращении выделения тепла при добавлении углекислого газа. Прохождение реакции сопровождается превращением суспензии хлористого алюминия и не растворившегося ферроцена в истинный раствор красного цвета. Затем реакционный сосуд вскрывается и реакционная смесь выливается на смесь льда и подкисленной воды малыми порциями при интенсивном перемешивании. При этом выпадает ферроценкарбоновая кислота. Из подкисленной воды она выпадает практически нацело. Окислившийся ферроцен остаётся в растворе в виде солей феррициния. Смесь фильтруется, осадок ферроценкарбоновой кислоты снимается, растворяется в растворе гидроксида натрия, фильтруется через целит и повторно осаждается. Переход ферроценкарбоновой кислоты в соль феррициния не проходит из-за наличия акцепторного карбоксильного заместителя в ферроценовом ядре. Не прореагировавший ферроцен же в условиях выделения окисляется и переходит в раствор, за счёт чего достигается отделение продукта от непрореагировавшего исходного соединения.

11. При тестировании N-изоникотиноилферроценкарбогидразонов не было возможности изучить их метаболизм или хотя бы стабильность. Вполне естественно предположить, что будет проходить гидролиз оснований Шиффа. Однако опыт последующей работы с данными соединениями показал, что они склонны превращаться, селективно отщепляя изоникотиноильный фрагмент, образуя гидразоны ферроценкарбоновой кислоты.

12. Когда углекислота вносилась в виде сухого льда, загрузки были небольшими и вероятности взрыва бутылки даже при ошибке в расчёте загрузки не было. Кроме того, расчёты выполнялись точно и аккуратно. По поводу природы реакционного сосуда. При использовании толуола либо

бензола в качестве растворителя, возможно применение любых ПЭТ-бутылок. Если для проведения такого типа синтезов понадобится применение галогенированных углеводородов, например дихлорметана, процесс можно проводить в ПВХ-бутылках.

На заседании 18 июня 2024 г. диссертационный совет принял решение присудить Куликову В.Н. ученую степень кандидата химических наук за разработку препаративных методов синтеза новых классов соединений с антимикобактериальной активностью – N-изоникотиноилферроценкарбогидразонов и гидразидов 5-ферроценил-1*H*-пиразол-3-карбоновых кислот, вносящую значительный вклад в развитие химии биологически активных элементоорганических и органических соединений.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 10 докторов наук по специальности 1.4.8. – Химия элементоорганических соединений и 4 доктора наук по специальности 1.4.3. – Органическая химия, участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту – 0 человек, проголосовали: за – 21, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Заместитель председателя
диссертационного совета 24.1.161.01
д.х.н.

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.161.01
к.х.н.



Любимов Сергей Евгеньевич

Ольшевская Валентина Антоновна

18 июня 2024 г.